Aus dem Pharmakologischen Institut der Hansischen Universität
im Universitäts-Krankenhaus Eppendorf
Direktor: Professor Dr. K e e s e r

Über die Wirkungsweise von Nitriten auf den isolierten Kaninchendarm

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnmedizin
der Medizinischen Fakultät der Hansischen Universität

vorgelegt von

Heinz Großer
Zahnarzt

Hamburg 1938

Berichterstatter: Prof. Dr. Keeser

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Hamburg

Druck: A. Preilipper, Hamburg 11, Admiralitätstr. 16 / Fernruf 36 50 89

MEINEN ELTERN!

Seitdem die Nitrite sich als Heilmittel in der Medizin einen festen Platz erobert haben und in der Industrie eine ausgedehnte Verwendung finden, hat die Frage nach ihren etwaigen Giftwirkungen erhöhtes Interesse. Diese können durch medizinale Überdosierung, durch akute oder chronische Inhalation ihrer Dämpfe in industriellen Betrieben oder durch Verwechslung mit dem weniger giftigen Salpeter hervorgerufen werden.

Durch zahlreiche Tierversuche wurde bereits ein sehr vielseitiges Material über die Giftwirkungen der hierher gehörenden Verbindungen zusammengetragen, jedoch war es noch nicht möglich, ihre Wirkungsweise restlos zu klären.

Im folgenden soll zunächst ein kurzer Überblick über die wichtigsten Wirkungen der Nitrite gegeben werden, die bisher am tierischen und menschlichen Organismus beobachtet worden sind.

Da alle Nitrite und Nitroverbindungen eine grundsätzlich gleichartige pharmakologische Wirkung haben *(Starkenstein-Rost-Pohl)* (1), wird im folgenden meistens von den Nitriten allgemein gesprochen werden.

Wirkung auf das Blut. Als erster wies *Gamgee* (2) auf die Veränderung des Blutfarbstoffes nach Einatmung von Nitritdämpfen hin. Das Oxyhämoglobin des Blutes wird hierbei in Methämoglobin umgewandelt. Die Farbe des Blutes erhält ein schokoladenfarbenes Aussehen. Auch auf die charakteristische Veränderung des Spektrums wies der genannte Autor hin. Diese Ergebnisse wurden durch die Arbeiten von *Dittrich* (3) bestätigt, der Hunden von 7 kg Gewicht 5 ccm Nitrobenzol per os verabfolgte. Schon nach 1½ Stunden zeigte sich ein deutlicher Methämoglobinstreifen neben demjenigen von Oxyhämoglobin. Ein Versuch mit Nitroglycerin ergab dasselbe Bild.

Eine weitere Bestätigung der Methämoglobin bildenden Wirkung fand *Sakurai* (4). Er injizierte Katzen, die Nitriten gegenüber ganz besonders empfindlich sind, eine tödliche Dosis von Natriumnitrit (0,035 g pro kg subkutan). Nach dem Tode, der schon nach einer Stunde eintrat, konnte auch er ein typisch schokoladenfarbenes Blut beobachten, dessen Methämoglobingehalt 92,9% betrug. Wurde die Dosis gesteigert (0,05—0,1 g pro kg), so ergab sich ein Methämoglobingehalt von 100%. Es muß sich hierbei um eine progrediente Bildung gehandelt haben, da ja der Tod schon bei ⅔ Oxyhämoglobinentzug infolge Erstickung eintritt.

Auch an Kaninchen, die im allgemeinen resistenter sind (tödliche Dosis: 1,7 g $NaNO_2$ pro kg), zeigte sich nach dem Tode, der ungefähr zwei Stunden nach der Injektion eintrat, im Blut ein Methämoglobingehalt von über 86%.

Andere Autoren, die sich mit den Nitritvergiftungen beschäftigt haben, bezeichnen die Methämoglobinbildung ebenfalls als ein stets auftretendes Symptom. Erwähnt seien *Jolyet, Regnard* und *Giacosa* (5).

An dieser Stelle sei auch noch auf eine andere Veränderung des Blutes hingewiesen. In Versuchen an Hunden beobachtete *Dittrich* (a. a. O.) bei Verabfolgung von Nitrobenzol nur eine geringfügige Herabsenkung der Erythrozytenzahl, doch gibt *Signorino* (6) an, daß er bei sämtlichen Vergiftungsfällen durch Nitrite eine erhebliche Verminderung der roten Blutkörperchen feststellte (1,8 bis 3,2 Mill. pro mm^3), während die Leukozytenzahl normal blieb.

Gunziter-Kramer (7) beobachtete bei zwei Patienten, die wegen einer Nitritvergiftung ins Krankenhaus eingeliefert worden waren, noch nach zehn Stunden bzw. nach drei Tagen eine Beschleunigung der Blutsenkungsgeschwindigkeit.

Filehne (8) richtete sein Augenmerk auf den Sauerstoff- und Kohlensäuregehalt des durch Nitrobenzol vergifteten Hundeblutes. Er fand, daß trotz verstärkter Atmung der Sauerstoffgehalt erheblich verringert war. Das Blut enthielt um so weniger Sauerstoff, je weiter die Vergiftung vorgeschritten war. Der Gehalt des arteriellen Blutes an Kohlensäure war gleichfalls meistens geringer, obwohl man einen ebenso hohen Kohlensäuregehalt wie im Erstickungsblut hätte erwarten sollen. *Filehne* macht hierfür die durch Sauerstoffmangel bedingte dyspnoische, also reichlichere Atmung verantwortlich, da ja eine stärkere Lungenventilation die Kohlensäureausscheidung erheblich vermehrt.

Wirkung auf das Herz. Auch das Herz bleibt bei Nitritvergiftung nicht unbeeinflußt. *Signorino* (a. a. O.) beobachtete in zehn Fällen ein accidentelles systolisches Geräusch über der Mitralis.

Schott (9) konnte in Versuchen mit Meerschweinchen, denen er Amylnitrit verabfolgte, beobachten, daß schon nach wenigen Minuten vor Aussetzen der Atmung Herzblock auftrat. Das Ventrikelelektrokardiogramm veränderte sich in der Weise, daß sechs Minuten nach Beginn der Amylnitritinhalation nur noch nach jeder zweiten Vorhofsystole eine Ventrikelsystole erfolgte.

Die Beschleunigung der Herzaktion unter Amylnitrit kann beim Menschen bis zur Verdoppelung der Pulsfrequenz führen, doch hängt sie im allgemeinen vom Alter der betreffenden Person ab (10). Die meisten Autoren führen die Beschleunigung auf Herabsetzung des Tonus des Vaguszentrums zurück. *Cash* und *Dunstan* (11) sind jedoch der Ansicht, daß es sich hierbei um eine direkte Wirkung auf das Herz handelt, da in ihren Versuchen Amylnitrit das Herz auch beschleunigte, nachdem sie die Vagi durchschnitten hatten.

Wirkung auf Kreislauf und Blutdruck. Pulskurven, die an Menschen gewonnen wurden, zeigen, daß z. B. Amylnitrit eine

sehr deutliche Beschleunigung des Pulses hervorruft. Der Blutdruck fällt hierbei sehr rasch. Die Wirkung beginnt innerhalb einer Minute nach Beginn der Einatmung, ihr Maximum ist nach etwa 3 Minuten erreicht; 7 Minuten nach Beendigung der Zufuhr ist sie wieder verschwunden.

Beim Tier fällt der Blutdruck innerhalb von 4 bis 5 Sekunden. Der tiefste Punkt wird nach 35 bis 40 Sekunden erreicht (12). Der Grund für die Blutdrucksenkung ist in einer Gefäßerweiterung zu suchen. *Cash* und *Dunstan* (a. a. O.) sowie viele andere Autoren zeigten in sorgfältigen Versuchen, daß die gefäßerweiternde Wirkung des Amylnitrits eine rein periphere auf die Gefäßwände selbst ist. Einige andere Autoren glauben jedoch trotzdem, daß sie jedenfalls teilweise durch eine Lähmung des gefäßverengenden Zentrums bedingt wird.

Erwähnt sei noch, daß im Lungenkreislauf der Blutdruck durch Amylnitrit kaum gesenkt wird; ja er soll manchmal dort sogar etwas ansteigen (13).

Wilkins (14) schloß aus seinen Versuchen, daß Nitritvergiftungen eine verhältnismäßige Vergrößerung des Volumens des venösen Systems und damit eine Versackung des Blutes in der Peripherie verursachen, die zu Schwindelgefühl bzw. Kollaps führt.

Wirkung auf die Atmung. Die Atmung ist in den meisten Fällen zunächst verlangsamt, um dann eine Beschleunigung zu erfahren. Nach *Filehne* (15) ist letztere durch die Blutdrucksenkung bedingt, denn sie verschwand wieder, wenn der Blutdruck durch Kompression der Aorta gehoben wurde.

Allgemeine Symptome. Als Folge der Methämoglobinbildung treten regelmäßig Cyanose mit starker Dunkelfärbung der Haut, Atemstörung, Amblyopie und Schlafsucht auf. Außer den angeführten Erscheinungen werden bei Nitritvergiftungen Erbrechen, Stuhlabgang, Salivation, Schweißausbrüche, Ataxie, lallende Sprache, Trismus, Bewußtlosigkeit und allgemeine Lähmung beobachtet.

Ganz besonders sei betont, daß alle diese Symptome nicht immer gleich stark auftreten; auch kann die eine oder andere Erscheinung fehlen. Die Schwere und Vielseitigkeit der Vergiftung richtet sich nach Art der Verabreichung, nach der Giftmenge und der individuellen Widerstandskraft. Für die Länge der Incubation macht *Filehne* (16) weniger die Giftmenge und die Schnelligkeit der Verabreichung verantwortlich als vielmehr die Resorptionsmöglichkeit. Letztere ist wieder von der Größe der Berührungfläche abhängig. An recht anschaulichen Versuchen mit Kaninchen konnte *Filehne* dies beweisen.

Schon aus diesem Überblick ergibt sich, wie mannigfaltig die Wirkungen der Nitrite bzw. der Nitroverbindungen sind.

Da über Einwirkung der Nitrite auf den Darm bisher noch sehr wenig bekannt ist, wurde im Rahmen anderer Untersuchungen geprüft, wie diese Verbindungen den nach *Magnus* isolierten, rhythmisch arbeitenden Kaninchendarm beeinflussen. Amylnitrit und Natriumnitrit wurden hierbei auch kombiniert mit Sympatol, Atropin und Acetylcholin, da diese Substanzen eine elektiv sympathische bzw. para-

sympatische Wirkung besitzen und sich aus ihrer synergistischen bzw. antagonistischen Wirkung möglicherweise Schlüsse daraus ziehen lassen, in welcher Weise Nitrite den Erregungszustand des vegetativen Nervensystems beeinflussen.

Wie erwähnt, wurde im Prinzip die Methode von *Magnus* (17) bei unseren Untersuchungen verwendet. Außerdem wurden gegebenenfalls Verbesserungen vorgenommen. So wurde stets statt Ringer'scher Nährlösung Tyrode-Lösung in folgender Zusammensetzung benutzt:

NaCl	20%	450 ccm
KCl	10%	42 ccm
$MgCl_2$	10%	0,5 ccm
$Na_3\ PO_4$	5%	1,0 ccm
$CaCl_2$	10%	25 ccm
Aqua dest. ad . .		10 000 ccm
Glukose		10 g

Von dieser Stammlösung wurde täglich die für die Versuche benötigte Menge entnommen und hierzu Natriumbicarbonat hinzugegeben. (Auf 1000 ccm Tyrode 10 ccm 5proz. $NaHCO_3$-Lösung). Die Natriumbicarbonatlösung muß täglich frisch bereitet werden.

Das zum Versuch verwendete Darmstück von etwa 3 cm Länge befand sich in einem Becherglas von 13 cm Höhe und einem Durchmesser von etwa 6½ cm. Dieses enthielt stets 300 ccm körperwarme Tyrodelösung. In dieses Glas tauchte vertikal eine u-förmige Glasröhre, die zur Zuführung von Sauerstoff diente. Dieser durchperlte ohne Unterbrechung die Nährflüssigkeit. Am abgebogenen Teil der Glasröhre, der am Boden des Becherglases entlang läuft, befand sich eine Fadenschlinge mit einem kleinen Haken. An diesem wurde das untere Ende des Darmstückes befestigt. Das andere Darmende wurde auf gleiche Weise befestigt. Dieser Faden führte an das eine Armende eines Hebels, der mit einem Schreiber verbunden war. Auf diese Weise konnten die Längenveränderungen des Darmstückes auf einem Kymographion aufgezeichnet werden.

Um die Temperatur der den Darm umspülenden Flüssigkeit stets auf gleichmäßiger Temperatur zu halten, hing das Versuchsglas bis nahe an seinen oberen Rand in einem Wasserbad. Mittels regulierbarer, elektrischer Heizung wurde dessen Wasser auf der Temperatur von 38° bis 39° C gehalten.

Die Zufuhr und Entfernung der zu prüfenden Substanzen gestaltete sich folgendermaßen:

In 300 ccm Tyrodelösung befand sich Amylnitrit in der gewünschten Konzentration. Nachdem diese Versuchslösung langsam auf eine Temperatur von 37° C gebracht und ebenfalls mit Sauerstoff durchperlt worden war, wurde das Becherglas, in dem das Darmstück schon in reiner Tyrodelösung arbeitete, nach Absaugen dieser Lösung mit der Amylnitritlösung wieder gefüllt. Während nun diese Lösung auf den Darm einwirkte, wurde bereits neue Tyrodelösung vorgewärmt, die zur Auswaschung des Darmes dienen sollte. Auch diese wurde mit Sauer-

stoff durchperlt. Beim Absaugen zeigte das Darmstück stets eine deutliche Tonussteigerung, die dadurch bedingt war, daß kurze Zeit Luft von Zimmertemperatur das Präparat berührte. Diese Tonussteigerung, die am Kurvenbild stets nach Absaugen der Ausgangs- oder einer Versuchslösung sichtbar wurde, gab jedoch keinen Anlaß zu Trugschlüssen, da sich bei jedem Flüssigkeitswechsel das gleiche Bild zeigte. Außerdem klang die Tonussteigerung nach Hinzufügen der neuen Flüssigkeit sofort wieder ab, und zwar ganz charakteristisch, je nachdem es sich um Auswaschung oder um Zusatz einer Versuchslösung handelte.

Wie schon erwähnt, wurden bei diesen Versuchen ausschließlich Kaninchen verwendet. Nachdem das Tier durch Nackenschlag getötet worden war, wurde rasch die Bauchhöhle eröffnet und eine größere Darmschlinge herausgenommen. Diese wurde darauf unverzüglich in ein bereitstehendes Vorratsglas, das körperwarme, sauerstoffdurchperlte Tyrodelösung enthielt, getaucht und in das thermokonstante Wasserbad gestellt. Nach ungefähr 10 Minuten wurde dann das zum Versuch notwendige, etwa 3 cm lange Darmstück entnommen und in den oben geschilderten Apparat eingespannt. Schon nach wenigen Minuten begannen die Pendelbewegungen des Darmes. Sobald sich dieser eingeschrieben hatte, konnten die Versuchslösungen zugesetzt werden.

Bevor die Ergebnisse unserer Versuche dargestellt werden, seien noch einige Fehlerquellen erwähnt, die bei Vorversuchen festgestellt und auf deren Vermeidung später geachtet wurde.

Es muß darauf geachtet werden, daß Sauerstoff ohne Unterbrechung die Lösung durchperlt, da sonst sofort eine Änderung der Peristaltik erfolgt. Ferner dürfen die Nährlösungen keinen Temperaturschwankungen unterworfen sein.

Erwähnt sei noch, daß der Darm besonders gut und regelmäßig arbeitete, wenn er beim Einspannen wenig gezerrt und der Darminhalt möglichst sorgfältig und vollständig entfernt worden war. Darmschlingen vom Anfang des Darmtraktus eignen sich zu den Versuchen besonders gut. Weiße Kaninchen erwiesen sich als ganz und gar unbrauchbar.

Befunde. Nach Zugabe von Amylnitrit in 10 mg proz. Konzentration sank der Tonus des Darmes etwas unter die Norm ab und die Pendelbewegungen hörten auf, um bald wieder einzusetzen. Sie erreichten jedoch nicht mehr die alte Größe, waren unregelmäßiger, indem stärkere Kontraktionen mit schwächeren abwechselten, und waren insbesondere viel langsamer. (Siehe Abb. 1. Der Pfeil gibt stets die jeweilige Zugabe der zu untersuchenden Substanzen an.)

In 100 mg proz. Konzentration schädigte Amylnitrit den Darm vollkommen, in 1 mg proz. Konzentration zeigte es keine Wirkung.

Unter dem Einfluß von Acetylcholin (1 mg proz.) zeigte der isolierte Darm sofort eine kräftige Steigerung seines Tonus. Die Fußpunkte der Pendelbewegungen lagen jetzt ungefähr bei den höchsten Punkten der normalen Kontraktionen. Langsam sank der Tonus wieder ab, wobei die Amplituden etwas regelmäßiger und größer wurden. (Abbildung 2.)

Unter der gleichzeitigen Einwirkung von Amylnitrit und Acetylcholin setzte sich die erregende Wirkung des Acetylcholins in der Weise durch, daß der Darm nicht vollständig, wie es bei Zusatz von Amylnitrit allein der Fall war, zur Ruhe kam. Die Verlangsamung der Amplituden und deren Unregelmäßigkeit ließen sich aber wieder feststellen. (Vgl. Abbildung 1.) Der zunächst erhöhte Tonus sank allmählich wieder bis unter die Norm ab. Ein Antagonismus beider Stoffe zeigte sich hier also nur im Einfluß auf den Tonus. (Abbildung 3.)

Atropin bewirkte in 5 mg proz. Konzentration sofort eine Abnahme der Größe der peristaltischen Wellen. Diese wurden zwar wieder größer, erreichten aber nicht mehr die Ausgangshöhe. (Abbildung 4.)

Bei gleichzeitigem Zusatz von Amylnitrit machte sich kein deutlicher Unterschied gegenüber der Wirkung von Amylnitrit allein bemerkbar. Lediglich arbeitete der Darm bei Zusatz von Atropin regelmäßiger und noch etwas langsamer, als er es unter der Wirkung von Amylnitrit allein tat. (Abbildung 5.)

Unter der Wirkung von Sympatol (1 : 20 000) wurden die peristaltischen Wellen zunächst schlagartig klein, um dann wieder zuzunehmen, jedoch ohne die Norm zu erreichen. (Abbildung 6.) Sehr beachtenswert ist, daß nach dem Auswaschen des Sympatols die Peristaltik erheblich kräftiger als vor der Sympatolgabe und sehr regelmäßig wurde. (Abbildung 6.)

Bei gleichzeitigem Zusatz von Sympatol und Amylnitrit erreichte die Peristaltik nach kurzem Stillstand sehr schnell wieder die alte Größe; der Darm arbeitete jetzt aber regelmäßig und zeigte nicht mehr die nach Amylnitrit allein zu beobachtende Verlangsamung. (Abbildung 7.)

Sympatol vermochte somit die Wirkung des Amylnitrits auf den Darm aufzuheben. Es wirkt also antagonistisch.

Natriumnitrit bewirkte in 100 mg proz. Konzentration ähnlich wie Amylnitrit in 10 mg proz. Konzentration Verlangsamung und Unregelmäßigkeit der Darmtätigkeit, jedoch trat die Wirkung langsamer ein. Auch war der plötzliche Tonusabfall, der stets bei Amylnitritzusatz zu beobachten war, nicht festzustellen. (Abbildung 8.)

Bei gleichzeitigem Zusatz von Acetylcholin (1 mg proz.) blieben die peristaltischen Wellen regelmäßig und waren nicht mehr verlangsamt. Der zunächst erhöhte Tonus sank allmählich wieder ab. Somit wirkte Acetylcholin antagonistisch. (Abbildung 9.)

Die Untersuchungen zeigten somit, daß Nitrite die Darmtätigkeit stark schädigen, sowie daß Acetylcholin und Sympatol ihre Wirkung aufzuheben vermögen.

Da indessen Sympatol und Acetylcholin an verschiedenen Teilen des vegetativen Nervensystems angreifen, durfte die Vermutung von *Bernheim* (18) und *Beams* (19) zu Recht bestehen, daß nämlich die Nitrite nicht oder erst in zweiter Linie über das vegetative Nervensystem wirken, sondern in erster Linie an der Muskulatur angreifen.

Auch die Versuche am entnervten Blutegelmuskel, die von uns durchgeführt wurden, ergaben deutliche Lähmung durch Nitrite. Diese Befunde können ebenfalls als Argument zugunsten direkter Wirkung auf die Muskulatur gedeutet werden.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, am Schlusse Herrn Professor Dr. K e e s e r für die freundliche Überlassung des Themas sowie für die bereitwillige Unterstützung bei Ausführung der Arbeit meinen besten Dank auszusprechen.

Abbildung 1.

Abbildung 2.

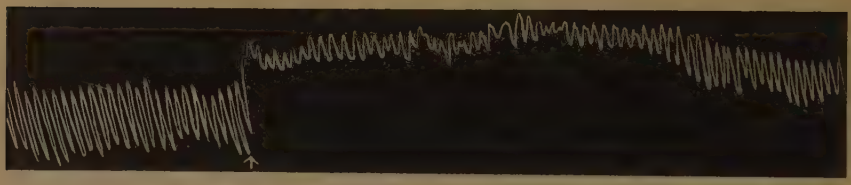

Abbildung 3.

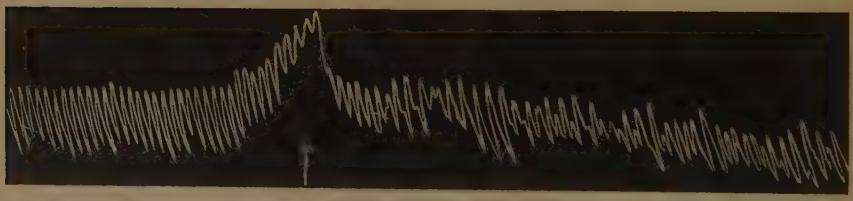

Abbildung 4.

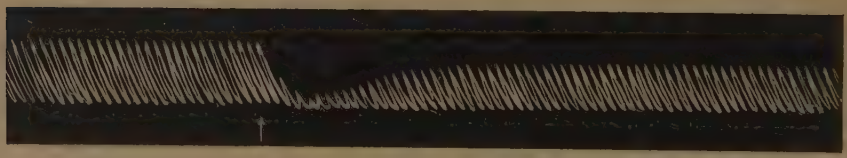

Abbildung 5.

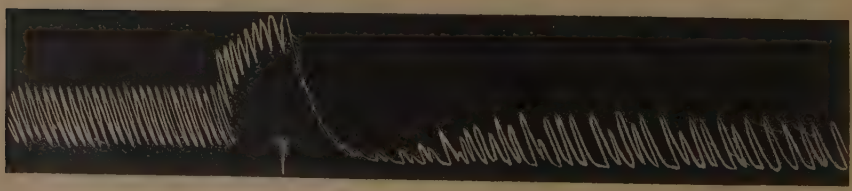

Abbildung 6.

(Der zweite Pfeil der Abb. gibt die Auswaschung des Sympatols an.)

Abbildung 7.

Abbildung 8.

Abbildung 9.

LITERATUR-VERZEICHNIS.

1. *Starkenstein-Rost-Pohl:* Toxikologie, S. 235 (1929).
2. *Gamgee:* Archiv f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 13, S. 133 (1881).
3. *Dittrich:* Archiv f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 29, S. 272 (1892).
4. *Sakurai:* Archiv f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 109, S. 214 (1925).
5. *Jolyet, Regnard* u. *Giacosa:* cit. nach Heffter, Handbuch der exp. Pharm., Bd. 1, S. 849 (1923).
6. *Signorino:* Sammlung von Vergiftungsfällen, Bd. 7, S. 81 (1936).
7. *Gunziter-Kramer:* Sammlung von Vergiftungsfällen, Bd. 7, S. 15 (1936).
8. *Filehne:* Archiv f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 9, S. 328 (1878).
9. *Schott:* Archiv f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 87, S. 319 (1920).
10. Cit. nach *Heffter,* Handbuch der exp. Pharm., Bd. 1, S. 844 (1923).
11. *Cash* u. *Dunstan:* cit. nach *Heffter,* Handbuch der exp. Pharm., Bd. 1, S. 845 (1923).
12. Cit. nach *Heffter,* Handbuch der exp. Pharm., Bd. 1, S. 835 (1923).
13. *Openchowski:* Zeitschrift f. kl. Med., Bd. 16, S. 202.
14. *Wilkins:* cit. nach Berichte über die gesamte Physiologie, Bd. 99, S. 512 (1937).
15. *Filehne:* cit. nach *Heffter,* Handbuch d. exp. Pharm., Bd. 1, S. 848 (1923).
16. — Archiv f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 9, S. 335 (1878).
17. *Magnus:* Pflüg. Archiv, Bd. 102, S. 123 (1914).
18. *Bernheim:* cit. nach Berichte über die gesamte Physiologie, Bd. 82, S. 365 (1935).
19. *Beams:* cit. nach Berichte über die gesamte Physiologie, Bd. 68, S. 709 (1932).

LEBENSLAUF.

Am 3. Juli 1913 wurde ich, Heinz Großer, als Sohn des Volksschullehrers Max Großer und seiner Ehefrau Gertrud geb. Sperling in Oberseifersdorf bei Zittau geboren. Von 1920 bis 1924 besuchte ich die Volksschule in Ebersbach/Sa., darauf die Deutsche Oberschule in Löbau/Sa. Im März 1933 legte ich hier die Reifeprüfung ab. Anschließend widmete ich mich dem Studium der Zahnheilkunde in Jena, wo ich am Ende des Wintersemesters 1934/35 die zahnärztliche Vorprüfung bestand. Vom 1. April 1935 bis 25. September 1935 genügte ich meiner Arbeitsdienstpflicht in Radeberg/Dresden. Im November 1935 setzte ich mein Studium in Hamburg fort und erhielt am 8. November 1937 daselbst die zahnärztliche Approbation.